

Japanese Patent Office		
Classification: 36(2)D 531.42	Publication	Publication No.: 42-3838
		Publication date: February 17, 1967
(Total pages 3)		

Title: Method for preparing 5'-xanthyllic acid by microorganism

Application No.: 39-67248

Application date: December 1, 1964

Applicant: Asahi Chemical Industry Co. Ltd.

Abstract:

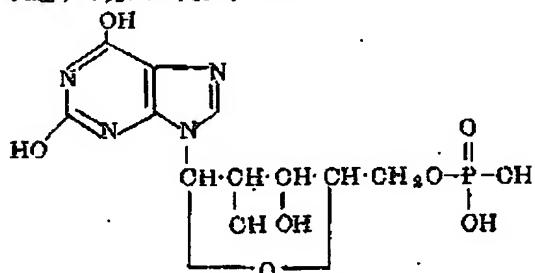
The present invention relates to method for preparing 5'-xanthyllic acid by microorganism. According to method of the invention, *Pseudomonas aeruginosa* which needs guanine for its growth and uses hydrocarbon as energy source, is cultured aerobically in medium comprising hydrocarbon, nitrogen, mineral, surface active agent and inorganic material including growth factor of fermentation bacterium at pH 5 to 9, and then 5'-xanthyllic acid is obtained from the culture.

微生物による5'-キサンチル酸の製造法

特 権 昭 39-67248
 出 願 日 昭 39. 12. 1
 発明者 大沢岳義
 延岡市旭町2の2の1
 同 濑戸進
 延岡市緑ヶ丘607の2
 同 渡辺史朗
 延岡市緑ヶ丘5003の14
 同 石田寅夫
 延岡市緑ヶ丘5003の34
 出 願 人 塩化成工業株式会社
 大阪市北区堂島浜通1の25の1
 代 表 者 菅崎輝
 代理 人 弁理士 久高裕信

発明の詳細な説明

本発明は、微生物による5'-キサンチル酸の製造法に関するものであつて、その目的とするところは呈味性成分として知られる6-オキシブリソ-5'-リボヌクレオチドの1種である下記構造式をもつたキサンチル酸を、塩化水素を主要原料とした直接発酵法により低費かつ工業的に有利に製造する方法を提供するにある。



5'-キサンチル酸の製造方法については現在まだ研究が進んでおらず、わずかにリボ核酸を5'-ホスホジエステラーゼにより加水分解してえられる5'-クアニル酸を化学的または生化学的に脱アミノ化する方法が考えられるにすぎない。本発明者はこれにたいして、微生物を用いて直接発酵法により培養液中に5'-キサンチル酸を効率よく生成若狭させ、これを単離採取する新規な方法を発明した。

本発明方法の特徴の第1は発酵法により直接培養液中に5'-キサンチル酸を生成若狭せしめること、第2は発酵菌としてシードモナス・エルギノーサの栄養要求株を使用すること、第3は主原料として塩化水素を利用することである。

本発明に使用する微生物は少くともグアニンを要求する菌種であればよく、これらは一般に塩化水素の氧化性を有するシードモナス・エルギノーサを親株として、紫外線、X線、ガンマ線などの照射、ナイトロジエンマスターならびに亜硝酸接触などの変異処理によつて生ずる栄養要求株から選ばれるが、なおそのほか、自然界から直接分離されたものでも上記栄養要求性を示し5'-キサンチル酸生産性がある場合が認められる。したかつて本発明における使用菌は、上記シードモナス・エルギノーサの親株の変異処理によつてえられる人工変異株ならびに自然界から直接分離された栄養要求株の両者を含み、これらは少くともグアニンを要求する栄養要求株であれば、その要求する栄養物質の適正な存在下で好気的に培養することにより5'-キサンチル酸を生成若狭させることができる。

上記5'-キサンチル酸生産性シードモナス・エルギノーサは、その一般菌学的性状については同種の非生産菌株とはほとんど差異がみられないが、ただもつとも重要な特徴につきの点にある。

1. 非生産菌株に比べて脱リン酸酵素活性が低いこと。
2. 5'-キサンチル酸などの培養液中への蓄積により生育が支配されないこと。
3. 最少栄養培地にまつたく生育しないこと（少くともグアニンが存在しなければ生育はみられない）。

つぎに本発明方法で用いられる栄養培地は5'-キサンチル酸を収量よく生成若狭させるに適するよう改良したものであつて、塩化水素、窒素源、無機塩および菌の生育に必要な栄養因子を含有する有機栄養物質などを適当量配合し、さらにこれに界面活性剤を添加してなるものである。塩化水素としては灯油、軽油、重油など石油分馏物、原油、ナフサ、天然ガス、パラフィン、オレフィン、アルカンなどが工業的に有利であるが、そのほかの塩化水素も利用できる。必要によつては糖質す

なわちグルコース、シユクロース、魔根蜜類やその他グルコン酸などを混用することが効果的な場合もある。窒素源としては無機アンモニウム塩、尿素、アンモニアなどが使用され、これらは适时pH調節を兼ねてフィードすることができる。無機塩としてはリン酸、マンガン、鉄、亜鉛、マグネシウムなどを含有するものを供給すればよく、また生育に必要とする因子としては核酸塩基、ビタミン、アミノ酸などであり、とくに前記のようにグアニン系化合物すなわちグアニン、グアノシン、グアニル酸、リボ核酸などの添加は必須である。これらは単体(純物質)として、またはこれらを含有する天然物、たとえば乾燥酵母、酵母エキス、肉エキス、カゼイン加水分解物、トウモロコシ加水分解物などを使用することができる。それぞれの添加量は菌株によつてことなるが、たとえば酵母エキシの場合には0.01~0.5%が適當で、またグアニン系化合物を単体で与える場合はグアニン塩基としては5g/L以上になるように調整する。これらが過少または過剰量の場合は目的物の収量が若干低下するから、その至適量は供試菌株の特性に応じてあらかじめ定めておくようとする。

本発明における界面活性剤の培地への添加は重要な意味をもつてゐる。その作用操作は主として炭化水素と他の水溶性培地成分ならびに発酵菌体とをよく混合接触させることにある。具体的な該薬剤の種類としては、ポリオキシエチレン・ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステルなどがあげられ、とくにポリオキシエチレン・モノオレート、ポリオキシエチレン・モノステアレート、ポリオキシエチレン・ソルビタンモノラウレートを構成成分とする非イオン界面活性剤が効果的である。それらの添加量は上述の作用を果すに必要な程度でよく、過剰量の存在はさけるものとする。

上記培地における菌培養中のpHも重要で、これは菌株によつて多少ことなるが5.0~9.0の範囲であればよい。培養中、液pHが5.0以下になる場合は炭酸カルシウム、水酸化ナトリウムあるいはアンモニウムなど適当な塩基性中和剤でpHコントロールを行う。培養は好気的条件たとえば通気搅拌、恒温培養などの方式で実施する。培養温度は25~35℃、培養時間48~120時間で、5'-キサンチル酸の生成量が最高に達する。培養終了液から5'-キサンチル酸の単離は、発酵菌体を分離した濁液を通常の精製法たとえば

アニオン交換樹脂によるカラムクロマト分画により比較的精製された5'-キサンチル酸溶液をえ、これによりギ酸などの混在物を除去したのち凍結乾燥または有機溶媒処理により粗5'-キサンチル酸を晶出単離させる。

以下に本発明の実施例を示すが、これらは單なる例示であつて本発明をなんら制限するものではない。

実施例 1

シードモナス・エルギノーサNU-120株(グアニン要求性)を、灯油10%、尿素0.3%、硫酸マグネシウム0.1%、塩化カリ0.1%、硫酸第1鉄0.1%、酵母エキス1.0%、炭酸カルシウム0.4%、pH7の組成の培地に接種し、30℃、24時間培養して種培養液とする。主発酵培地として、灯油2.3%、尿素0.5%、硫酸0.15%、リン酸1カリ0.15%、リン酸2ナトリウム0.3%、塩化カリ0.1%、硫酸マグネシウム0.05%、硫酸第1鉄0.05%、ポリオキシエチレン・ソルビタンモノラウレート(アトラスパウダー社製、商品名ツクイーン20)0.05%、炭酸カルシウム5%、肉エキス0.1%の組成の培液2.5Lを5L容ジャーパーメンターに入れて、115℃、1.5分間加熱殺菌しpHを7に調整する。この主発酵培地に前記種培養液を5%の割合で接種して温度30℃、通気量2.5L/分、搅拌数200rpmの条件で培養した。培養72時間後の5'-キサンチル酸の生成量は0.289g/dlであった。この培養終了液1Lから菌体を除去し、イオン交換樹脂ダウニクス1-X-2(酸型)で処理して5'-キサンチル酸含有液区分を分離し、この分離液を凍結乾燥して5'-キサンチル酸の粗結晶1.47gを得た。

実施例 2

シードモナス・エルギノーサASB-2120菌に紫外線を照射してえた2120-J-14菌株(グアニン要求性)を前例と同様の操作方法で、ただし培地の炭素源として灯油の代りにn-ヘキサンを用いて培養した。培養液1Lから5'-キサンチル酸の粗結晶1.71gを得た。

特許請求の範囲

1 少くともグアニンをその生育に要求し、かつ炭化水素を変化する性質を有するシードモナス・エルギノーサを、炭化水素、窒素源、無機塩、界面活性剤および発酵菌の生育に必要な栄養因子を含む有機栄養源よりなる栄養培地に接種して、pH5~9に保持して好気的に培養をおこない、培養

液中に 5' - キサンチル酸を生成蓄積せしめ、こ 5' - キサンチル酸の製造方法。
れを単離収得することを特徴とする微生物による